中華農業研究（Jour. Agric. Res. China）48(1)：40-51（1999）

落花生種間雜交種之鑑別及其特性分析[1]

黃惠娟[2] 曹文隆[2] 林順福[3] 謝兆樞[3] 蔡志濃[4]

摘要：爲改良栽培種落花生之銹病及葉斑病抗性，本所引進抗病野生種落花生種原，經兩年觀察試驗後，將 8 個野生種原與本地栽培種進行種間雜交。經由染色体體數目的觀察及 RAPD 的分析，確認得到三倍體 F_1 的植株，而理論上不稔的 F_1 植株，藉由自然發生或人爲秋水仙素處理形成的無減數分裂的孢子，即 2N 的花粉，可得到染色體數不等（2n=40～60）的 F_2 後代，其中部分單株可稔，目前已繁衍至 F_5 世代。雜種後代抗銹病的檢定結果，初步可確知野生種的抗銹病性機制不同於栽培種的緩銹病性，且不同野生種間其抗銹病的遺傳機制亦不相同，其中 *A. chacoense* 對銹病爲免疫性，其抗性機制不屬於顯隱性關係。*A. villosa* 及 *A. spegazzinii* 則爲部分顯性。

關鍵詞：落花生栽培種、落花生野生種、種間雜交種。

前　言

台灣自民國 34 年起至 87 年止，在 53 年間共育成了 23 個優良的落花生品種，但經常有優良親本重複使用的情況，像北港白油豆、西班牙白及 Florispan Runner 三者累積的遺傳貢獻率 (relative genetic contribution) 達 62.25%，而以雜交育成的台南 6、7、10、11 號、台農 6 號及純系選出的台南白油豆 1 號之間均有親緣關係；台農 4、5、6 號與西班牙白間亦具親緣關係，另台南選 9 號及台南 12 號之親緣係數 (coefficient of parentage) 高達到 0.625(1.4)，而台灣目前栽培最廣泛且重要的品種一台南 11 號及台南選 9 號，由 RAPD (random amplified polymorphism DNA) 分析結果得知，兩者的遺傳組成非常接近，其遺傳距離爲 0.259(4)，而在 87 年新命名的台南 13 號其母本亦爲台南選 9 號，台南 14 號亦有台南選 9 號的親緣，所以由前述可知台灣落花生的遺傳變異狹小，易引發遺傳脆弱性的問題，故引進新的、可利用的種原將可擴大遺傳變異，尤其是利用近緣野生種爲育種材料，可將自然資源做最大的利用。

銹病及葉斑病爲台灣落花生重要病害之一，但因台灣尙無較佳抗病性之栽培品種，故本所於 1992 年自美國農部及印度的 ICRISAT 中心引進 12 個落花生野生種原，隨即進行抗銹病及葉斑病檢定及農藝性狀的調查(3)，在檢定篩選後共得到八個對兩病害皆具免疫性或高抗性的種原，即自 1994 年開始進行以抗銹病爲主的種間雜交工作。而依據前人的研究報告指出(5.8.17.18)，栽培種中的抗銹病性是屬於緩銹病性 (slow rust)，且多數研究認爲受到兩對隱性基因所控制，而野生種的抗性遺傳研究雖然較少，但一般認爲其抗性機制與栽培種不同，可能是屬於部分顯性；本試驗即藉由不同組合的種間雜交後代

1. 臺灣省農業試驗所　研究報告第 1969 號。
2. 本所農藝系助理、助理研究員。台灣省　台中縣　霧峰鄉。
3. 前本所農藝系助理研究員（現任台灣大學農藝系助理教授）、臺灣大學農藝系教授。台北市。
4. 本所植病系助理。台灣省　台中縣　霧峰鄉。

來探討野生型的抗性機制，並同時進行後代及其親本之細胞遺傳學觀察、分子層次的RAPD分析及植株外表型來鑑定種間雜交種。

材料與方法

一、材料

㈠二倍體野生種落花生：自印度及美國引進，經檢定具抗銹病及葉斑病之 6 種野生種落花生為父本(表 1)，其中 *A. paraquariensis* 屬於 *Erectoides* 節 (section)(3)，已經由 0.2%之秋水仙素 (colchicine) 處理生長點為同質四倍體 (autotetraploidy)。

㈡四倍體栽培種落花生：

A. hypogaea：台農 5 號(TN5)、台農 6 號(TN6)、台南選 9 號(TPS9)
台南 11 號(TP11)、台南 12 號(TP12)為母本。

表 1. 引進野生種落花生之抗病蟲性

Table 1. The pest and disease resistance of the introduced wild peanut entries.

Species	Section	Genome	Leaf spot^z	Rust^y	Wowm^x	Spider mite
A. spegazinii	*Arachis*	AA	R^w	I	5	3
A. chacoense	*Arachis*	AA	R	I	1	5
A. correntina	*Arachis*	AA	R	R	1	3
A. villose	*Arachis*	AA	MR	I	1	3
A. batizocoi	*Arachis*	BB	S	R	1	3
A. paraquariensis	*Erectoides*	EE	R	I	3	3

z Level (infect percent in a leaf)= I: 0, R: 1-2, MR: 3-4, S: 5-9, HS: >10

y Level (infect percent in a leaf)= I: 0, R: 0.1-3, MR: 3.1-5, S: 5.1-10, HS: >10

x Level,1=Very low or no visible sign of susceptibility. 3= Low. 5=High. 9=Very high.

w Rating, I= immune, R= resistant, MR= moderately resistant, S= susceptible.

二、方法

㈠種間雜交：以栽培種為母本，引進之抗銹病野生種為父本，於春作 2-3 月及秋作 7-8 月之每日下午 5 時後去雄，清晨 6-8 時授粉。

㈡減數分裂之觀察： 每日上午 10-12 時之間，選取 1-2mm 之小花孢固定於 Farmer' s solution (95% ethanol : 45% acetic acid = 3:1)中，24 小時後，挑出花藥以 aceto carmine 染色後，進行鏡檢花粉母細胞之染色體數目。

㈢ RAPD 分析: 進行各組合親本及種間雜交後代之 RAPD (random amplified polymorphism DNA) 分析。葉片組織 DNA 的萃取依 Doyle *et. al.* (1990)(9)之方式進行。RAPD 分析於總體積 23 ul 的反應進行，內容物含 60 ng 基因組 DNA、0.2 mM dNTPs、1.5 U *Taq* polymerase、0.3 *u*M 逢機引子 (10-mers)、10 X PCR 緩衝液，反應條件為 94℃ (變性, denature) 5 分鐘後，進行 45 循環的 94℃ 1 分鐘、55℃ (黏接, annealing) 2 分鐘、72℃ (延伸, extension) 3 分鐘，最後 72℃ 10 分鐘。上述 PCR 產物進行電泳，以溴化乙錠（EtBr）染色，在 UV 燈下照相紀錄結果。

㈣性狀調查:

1.葉長及葉寬: 全展開成熟葉之頂小葉 10 片之平均長度及最大寬度。 2.莖長度: 每植株逢機取五支分枝進行測量，取其平均值。 3.花色：觀察旗瓣的顏色。

㈤銹病、葉斑病檢定: 分爲 1.免疫, I =immune 2.抗, R =resistant 3.中抗, MR =moderately resistant 4.感染, S =susceptible，以室內接種爲主，病原菌孢子在培養繁殖後，孢子濃度爲 20,000 個/ml 的溶液，於檢疫溫室內噴灑植株，10-14 天後視其感染葉片面積百分比來判斷。

結果與討論

一、種間雜交 F_1 的鑑定

㈠種間雜交種細胞遺傳的分析:

在以四倍體的栽培種與二倍體的野生種雜交後，所得 F_1 均爲三倍體(圖 1)，因在減數分裂時染色體無法配對，通常爲不稔的後代，而爲了產生可稔種子，以秋水仙素處理匍匐莖之生長點，另外因 F_1 植株生長繁茂且爲多年生，可自然產生 2N 雄配子，而此種產生自然倍加花粉的種間雜交後代，已在許多篇落花生種間雜交試驗中證實，主要因爲紡綞絲不正常的作用所造成 [10,13--16]，所以有些 F_1 的基因型能夠得到具稔性的雜種後代，其染色體數約爲 40-60 條(圖 2)，例如在 Simpson and Moss (1983) [14] 及 Singh and Moss (1984) [16] 的落花生種間雜交研究中，均已有指出種間雜交三倍體的植株，可獲得染色體自然加倍而來的種子，且 Simpson *et al.*（1993）[15] 試驗發現在 F_4 -F_5 世代染色體數可恢復爲栽培種的四倍體。唐等（1994）[2] 更進一步試驗指出，此種自然倍加的後代有豐富的基因重組合及外表型變異，於 F_5 世代可分離出直立株型的後裔，並已選拔出具理想目標的品系。像在印度、美國及中國大陸均已選拔出由種間雜交而來的具抗病性的優良品種或品系 [2,6,13,15,19,]。因此，本試驗獲得具稔性之雜種後代亦有可能係自然倍加植株。

本試驗中所得之 F_5 世代，外表型多呈半直立株型，已更接近栽培種直立型，惟開花數非常少，不稔性高，每株所得種子數不超過四粒，不似較早世代（F_2-F_5）能夠開花的基因型，其開花數非常多，有些單株可收到約十粒種子，由此可見，野生種落花生雖可能貢獻抗病蟲害等有利基因，但亦附帶引起稔性降低及產量低落等有害性狀，因此，在維持有利基因前提下進行更多雜交或回交，以除去不良性狀之連鎖拖曳（linkage drag）現象，獲得基因組穩定之個體，爲在育種上利用野生種原必需重視之一實際問題。

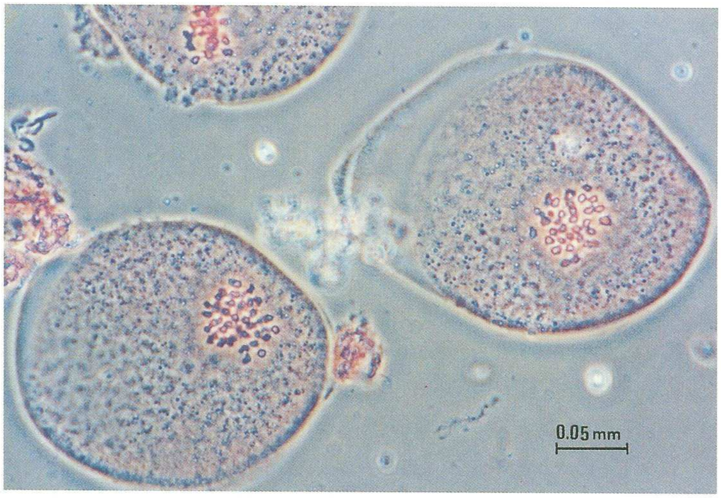

圖 1. 種間雜交種 F_1 之減數分裂（中期 I），染色體數約爲 30 條（2000 倍）。

Fig. 1. The meiosis of the interspecific hybrid F_1 at metaphase I stage, the chromosome number in each cell is about 40-60.

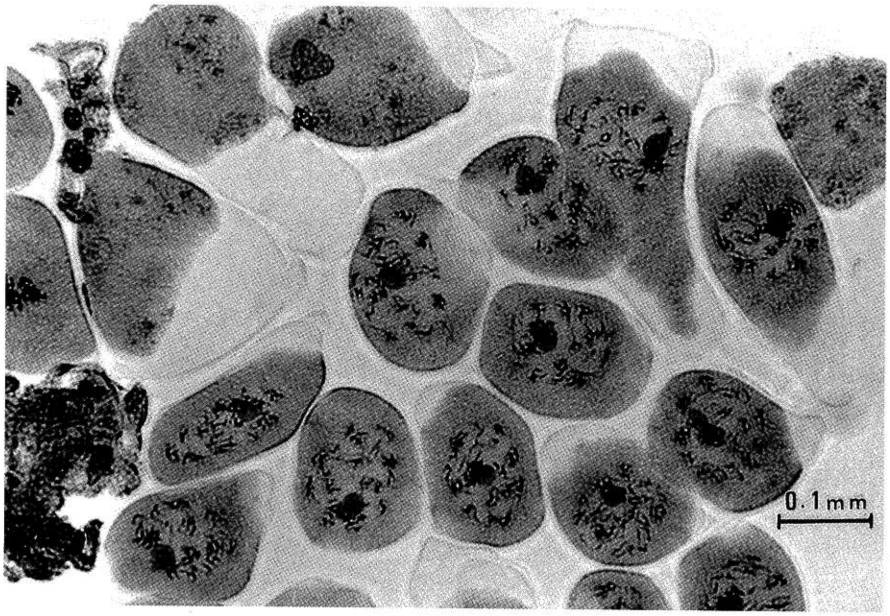

圖 2. 種間雜交種 F_3 減數分裂之雙絲期，染色體數約 40-60 條。
Fig. 2. The meiosis of the interspecific hybrid F_3 at diplonema stages, the chromosome number in each cell is about 40-60.

㈡種間雜交種分子層次的鑑定:

利用 G,C 含量在 60-80%的 UBC（The University of British Columbia）引子 100 組，首先篩選兩雜交親本間有多型性之引子（primer），然後用以確認F_1是否具有兩親本之遺傳物質（DNA片斷）；結果篩選出UBC-28,UBC-56 及 UBC-97 等 3 個引子可用以檢定種間雜種，由此 3 個引子進行各組合之親本及雜種 F_1 的 RAPD 分析均能確認 F_1 是來自種間雜交（圖 3），圖 3-A 中顯示在 TP 11 X A. spegazzinii 之八株 F_1 植株中，利用引子 UBC-56 （序列爲 TGCCCCGAG）增殖 DNA 後，出現分別來自母本的 1.2Kb 條帶及來自父本的 1.3Kb、 0.6Kb 條帶，而另一引子 UBC-97（序列爲 ATCTGCGAGC）（3-B 圖），則呈現母本的 1.1Kb 條帶，及來自父本但在 F_1 (Lane4-10) 表現極弱的 1.4Kb 條帶，圖 3-C,3-D 爲其他三組雜交組合利用引子 UBC-28 （序列爲 CCGGCCTTAA）及 UBC-97 擴增之結果，3-C 圖中的兩個不同雜交組合F_1後代，均有來自栽培種（TN6 及 TP12）的 0.3Kb，及來自共同父本A.spegazzinii 的 2.3Kb，而 D 圖中第一個雜交組合（TP11 X *A. spegazzinii*）八株 F_1 單株其條帶形式雖似母本，但由前述 C 圖的條帶及其外表型明顯介於兩親本之中間型，故仍可確認爲雜種 F_1，圖 D 中另一 TP12 X *A.chacones* 六株 F_1 有來自母本 1.6Kb 條帶，及來自父本 1.3Kb、0.8Kb，此三種引子非但証實本試驗所獲得之 F_1 來自種間雜交後代，同時很有可能做爲後代遺傳質追蹤或檢定其他種間雜交種之良好工具。

二、種間雜交植株性狀的觀察

在共進行 30 個種間雜交組合後，所得到的 F_1 單株有 38 株 (表 2)，其中與栽培種同爲 *Arachis* 節作爲父本的六個組合，均可得到至少一株以上的F_1 單株，且以 *A. spegazzinii* 爲父本的五個組合均得到 F_1 單株，而屬於 *Erectoids* 節的 *A. paraquariensis* ，雖已經由染色體倍加爲四倍體，但因染色體組的不同，且倍加後的同源四倍體（EEEE）本身的染色體數目及配對亦不正常（圖 4），故仍無法與異原四

倍體（AABB）的栽培種進行染色體的配對，而無得到 F_1 後代，目前在印度、美國或中國大陸，亦無 *Arachis* 節與 *Erectoids* 節雜交成功的記錄。

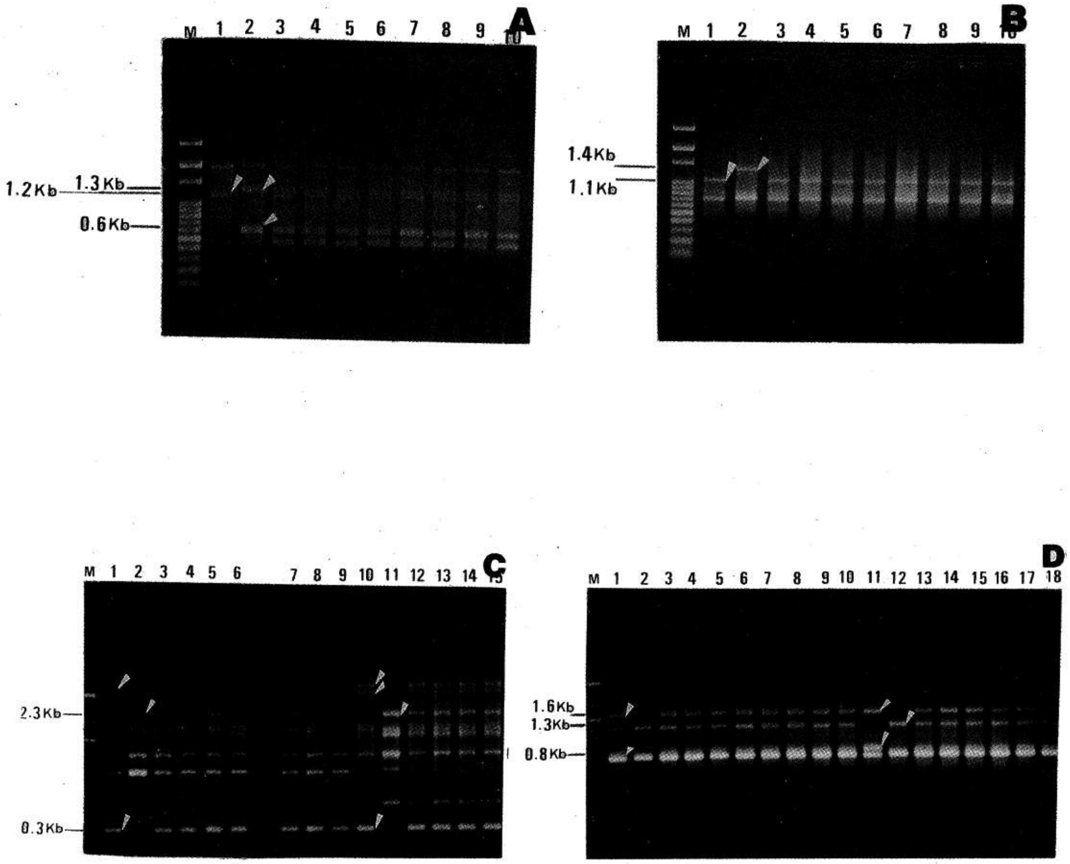

圖 3. 不同種間雜交組合 F_1 後代及親本之 RAPD 分析。

Fig. 3. The RAPD analysis for hybrid F_1 plant and parents in various hybrid combinations.

(A) M: Marker，Lane 1: Female,TP11，Lane 2: Male, *A. spegazzinii*, Lane 3-10: F_1 Single plants. Primer UBC-56 was used.

(B) M: Marker，Lane 1: Female,TP11，Lane 2: Male, *A. spegazzinii*, Lane 3-10: F_1 Single plants. Primer UBC-97 was used.

(C) M: Marker，Lane 1: Female,TN6，Lane 2: Male, *A. spegazzinii*, Lane 3-9: F_1 Single plants，Lane 10:Female,TP12，Lane 11:Male, *A. spegazzinii*, Lane 12-15: F1 Single plants Primer UBC-28 was used.

(D) M: Marker,Lane 1: Female,TN6，Lane 2: Male, *A. spegazzinii*, Lane 3-10: F_1 single plants. Lane 11: Female,TP12，Lane 12: Male, *A. chaconsei*, Lane 13-18: F_1 Single plants. Primer UBC-97 was used.

表 2. 種間雜交組合獲得之單株數

Table 2. The number of hybrid F_1 plant in each interspecific cross combinations.

(unit: plant)

Male\Female	TP11	TP12	TPS9	TN6	TN5
spegazzinii (2x)	8	4	1	8	2
A. chacoense (2x)	1	6	0	2	2
A. correntina (2x)	0	0	0	2	0
A. villose (2x)	0	1	2	1	0
A. batizocoi (2x)	0	0	0	0	0
A. paraquariensis (4x) [Z]	0	0	0	0	0
Total	9	11	3	13	4

[Z] Chromosome number is about 40 (4X=2n= 40) after colchicine treatment, the origin number is 20 (2X=2n=20).

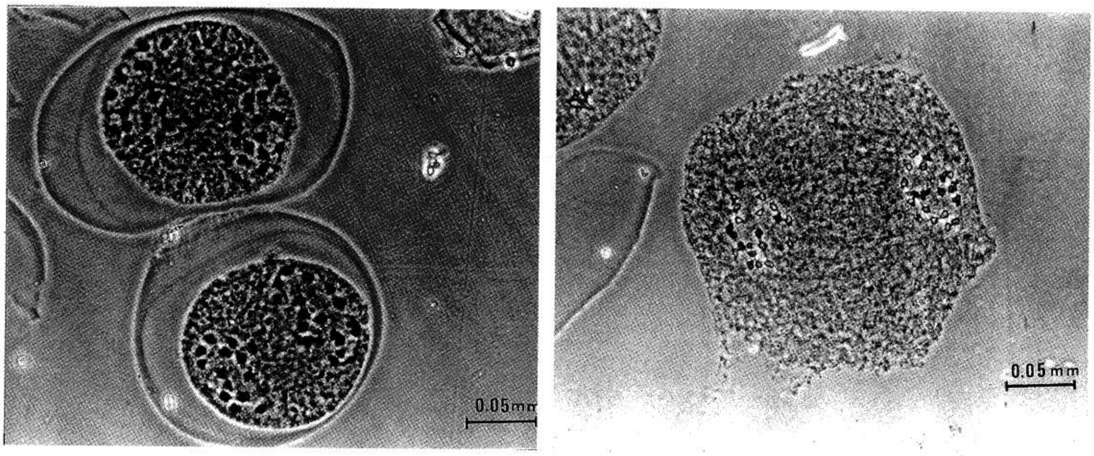

圖 4. (A)二倍體野生種 *A. paraquariensis* 經秋水仙素處理後之末期染色體數 (2n=16-20)。
(B)四倍體台南 11 號之末期染色體數 (2n=20)，細胞核較大。

Fig. 4. (A) The chromosome number at anaphase I stage of diploid *A.paraquense* after colchicine treatment (2n=32-40).
(B)The chromosome number at anaphase I stage of tetraploid TP11 (2n=4X=40), the nuclear is bigger than that in Fig. (A).

本試驗選取 F_1 單株在 2 株以上的 9 個組合，進行植株性狀調查及銹病及葉斑病抗性的檢定。種間雜交 F_1 植株外表型及莢果大小，在各組合中均呈中間型（圖 5），表 3 可看出以 *A. spegazzinii* 爲花粉親的四個雜交組合，除 TP11 X *A. spegazzinii* 的小葉長與寬接近父本外，其它不同母本雜交的三組合的小葉大小，皆爲介於父、母本之中間型，而葉色多呈現鑲嵌的情況；而此四雜交組合的莖枝長度相當長，生長習性偏向於野生型，除主莖直立，分枝可達一公尺以上，植株型態均屬於匍匐型(圖 6)，另以

*A. chacoense*爲父本的四個雜交組合，由植株外型觀察，與其他野生種爲父本的雜交F_1差別非常明顯，其葉型細小、莖節極短是接近於父本野生型，但葉片較厚且植株較爲直立又與栽培種相近，而不同的母本間其F_1的外表型並無差異(表 3)。以*A. correntina* 及 *A. villosa* 爲父本的F_1，其小葉型態介於父、母本之中間型，而莖長明顯長於父本的野生型，仍屬於匍伏型態。雖然四種野生型父本同屬於*Arachis*節，但 *A. chacoense* 起源於巴拉圭，而 *A. spegazzinii* 、*A. correntina* 及 *A. villosa* 則起源於阿根廷，*A. chacoense*與其它三種本身外表型差異就大，故其F_1之植株型態差異自然也大（表 3），但控制同一性狀的基因，像控制莖的生長或植株型態的基因，在各種野生種中則仍有明顯的不同，由前述可知控制莖生長速率或長度的基因，除了 *A. chacoense* 外，在野生型對栽培種而言爲顯性，若以植株生長習性的觀察來看，匍匐對直立生長爲顯性，1974 年 Coeffelt [7] 的報告有同樣的結果，而不同於 Hammons [12]（1973）的研究結果指出匍匐是隱性，直立是顯性，且不受母系效應（maternal effect）的影響。

就花色而言，所有雜交 F_1的旗瓣花色均成桔黃色(表 3)，可知栽培種的旗辦桔黃色對野生種的黃色完全爲顯性。

圖 5. 種間雜交 F_1之植株及莢果型態（台南 11 號 X *A. spegazzinii*）。

Fig. 5. The plant and pod characteristic of the interspecific hybrid F_1 (TP11 X *A. spegazzinii*).

表 3. 親本及種間雜交 F_1 之植株形態

Table 3. The plant characteristic of parents and interspefcific hybrids of peanut Parents

Parents and Hybrids	Leaflet length (cm)	Leaflet width (cm)	Leaf area (cm^2)	Steam length (cm)	Growth habit	Flower Color
TP11	4.8±0.73	2.3±0.15	11.5±0.31	38.6±0.61	Erect	Orange
TP12	4.9±0.73	2.7±0.22	13.7±0.30	39.6±0.53	Erect	Orange
TN6	5.3±0.10	2.6±0.25	14.2±0.16	41.2±0.32	Erect	Orange
TN5	6.0±1.06	3.0±0.43	18.4±0.19	40.8±0.13	Erect	Orange
A. spegazinnii	2.1±0.26	1.8±0.25	4.2±0.32	84.4±0.79	Procumbent	Yellow
TP11 X *A.spe.*	2.4±0.38	1.6±0.33	4.0±0.12	94.8±0.18	Procumbent	Orange
TP12 X *A.spe.*	3.4±0.42	2.2±0.33	7.8±0.20	85.6±0.21	Procumbent	Orange
TN6 X *A.spe.*	3.9±0.99	2.2±0.28	8.9±0.32	99.2±0.22	Procumbent	Orange
TN5 X *A.spe.*	3.0±0.18	2.1±0.13	6.4±0.54	95.2±0.22	Procumbent	Orange
A. chacoense	2.3±0.14	0.6±0.07	1.8±0.12	31.0±0.10	Decumbent	Yellow
TP12 X *A.cha.*	2.1±0.19	0.8±0.18	1.8±0.50	28.1±0.58	Erect	Orange
TN6 X *A.cha.*	2.3±0.28	1.4±0.20	3.1±0.79	30.0±0.70	Erect	Orange
TN5 X *A.cha.*	1.9±0.21	1.5±0.42	2.8±0.71	32.6±0.59	Erect	Orange
A. correntina	2.1±0.26	1.2±0.14	3.0±0.20	76.0±0.11	Procumbent	Yellow
TN6 X *A. cor.*	3.7±0.81	2.3±0.31	8.4±0.22	82.4±0.12	Procumbent	Orange
TPS9	5.2±1.14	2.8±0.31	15.0±0.16	37.9±0.32	Erect	Orange
A. villosa	1.9±0.16	1.2±0.13	2.7±0.19	69.0±0.11	Procumbent	Yellow
TPS9 X *A. vil.*	3.5±0.43	2.1±0.48	7.6±0.26	86.0±0.18	Procumbent	Orange

圖 6. 種間雜交 F_1 之植株型態（台農 6 號 X *A. spegazzinii*）。

Fig. 6. The plant characteristic of the interspecific hybrid F_1 (TN 6 X *A. spegazzinii*)

三、種間雜交後代的抗病性分離

在以全爲感病的栽培品種爲母本，及對銹病及葉斑病具免疫性或高抗性的野生種爲父本的所有 F_1 雜交組合，經檢疫溫室檢定結果，對銹病的抗性均在中抗程度以上，尤其以 *A. chacoense* 爲父本的 3 個雜交組合完全沒有發現病斑，對銹病菌爲免疫性，而葉斑病亦有同樣的情形(表 4)。銹病與葉斑病雖同爲台灣落花生最嚴重的葉部病害，爲生產的主要限制因子，但銹病所造成的損失更甚於葉斑病，故本試驗先針對種間雜交後代對銹病的抗性機制來探討。

由前述試驗結果可知野生種的抗銹病性，與前人研究指出的栽培種是由兩對隱性基因控制的遺傳機制不同[5,8,16]。而 Subrahmanyam *et al.* (1983)[18]研究指出野生型是由部分顯性所控制，就此試驗中 F_1、*A. correntina* 及 *A. villosa* 之雜交 F_1 單株具有低於父本的免疫性或高抗病性[3]之中抗程度，此抗性機制符合 Subrahmanyam 等人[17,18]的研究結果，但 *A. chacoense* 的所有 F_1 單株均爲免疫性，代表寄主與病原菌之間的抗感性基因無對偶性（non-allelism）存在，所以其抗性機制並不屬於顯隱性關係，故此有待進一步探討。而由於種間雜交所得到的 F_1 爲三倍體，不具稔性，故無法順利得到後代，只有 TP11 X *A. spegazinnii* 及 TPS9 X *A. villosa* 兩組合得到各別 10 株及 4 株的 F_2 後代，在各自繁衍爲 37 及 11 株的 F_3 單株，族群雖然很小，仍可觀察到後代抗性分離的情況(表 5. 圖 7)。在表 5 中，可看到 TP11 X *A. spegazinni* 的雜交單株後代抗病性，從免疫（I）到感病（S）四個等級均有，可見由野生種引進之抗銹病基因可在與栽培種雜交後代表現，此一材料可提供落花生抗病育種用，由於雜交後代族群過小，目前尚無法進行抗銹病之遺傳機制的研究。

表 4. 種間雜交 F1 植株之抗銹病及葉斑病調查

Table 4. Rust and leafspot resistance of interspecific hybrid F1 plant.

Male	*A. spegazzinii*				*A.chacoense*			*A. correntina*	*A. villosa*
Female	TP11	TP12	TN5	TN6	TP12	TN5	TN6	TN6	TPS9
Rust[z]	R[x]	MR	MR	R	I	I	I	R	R
Leafspot[y]	MR	MR	MR	MR	MR	MR	MR	MR	MR

[z] Level (infect percent in a leaf)= I:0, R:1-2, MR:3-4, S:5-9, HS:>10

[y] Level (infect percent in a leaf)= I:0, R:0.1-3, MR:3.1-5, S:5.1-10, HS:>10

[x] Rating, I= immune, R= resistant, MR= moderately resistant, S= susceptible.

表 5. 種間雜交 F_3 植株之抗銹病及葉斑病調查

Table 5. Rust and leafspot resistance of interspecific hybrid F_3 plant.

Cross Combination	Disease	Disease Resistance				Total Plants
		I[z]	R	MR	S	
TP11 x *A.spezazzinii*	Rust	14	14	6	3	37
	Leafspot	—	14	11	12	
TPS9 x *A. villosa*	Rust	8	3	—	—	11
	Leafspot	—	2	4	5	

[z] Rating, I= immune, R= resistant, MR= moderately resistant, S= susceptible.

圖 7. 台南 11 號 X *A. spegazzinii* 之 F_3 植株病原菌接種後情形。
(A) 抗銹病、葉斑病之健康株。 (B) 感染銹病、葉斑病之植株。

Fig. 7. The interspecific hybrids F_3 plant after pathogen inoculation (TP11 X *A.spegazzinii*).
(A)The plant resistant to rust and leafspot . (B)The plant susceptible to rust and leafspot.

本實驗自 1992 年開始引進野生種落花生，經兩年觀察試驗後，於 1994 年開始與本地栽培品種進行種間雜交，主要目的即欲利用野生種中的抗病及抗蟲性，如將抗葉斑病及抗銹病基因導入全為感病的台灣栽培品種中；本試驗已確實得到具抗銹病的種間雜交後代，其中 TP11 X *A. spegazzinii* 的三倍體 F_1 與其他組合相較，得到較多的 F_2 種子，故推測其有較高的 2N 花粉產生，且繁茂的匍匐莖之嫩芽可進行秋水仙素的莖頂處理，易得到四倍體到六倍體的後代族群，目前試驗已針對此一組合進行兩方向的研究，一為繼續進行的種間雜交，以期得到更大的 F_2 後裔族群；二為將已檢定出具抗病的 F_4 單株進行與栽培種的回交，預備在得到分別兩個 F_2 及 BC_2 族群後，依病害檢定結果，分為抗、感兩個集團，進行 RAPD 的混合分析 (Bulk segregant analysis, BSA)，找到與抗銹病基因可能連鎖的分子標識，並依據 1993 年 Halward, *et al.*[11] 所訂出的第一個落花生 RFLP 圖譜，偵測出抗性基因位於那一條染色體上，及進一步瞭解其遺傳作用機制。

引用文獻

1. 台灣雜糧作物圖說續版—落花生。1981。台灣省政府農林廳編印。97-107 頁。
2. 唐榮華、周漢群、蔡驥業。1994。花生栽野種間雜交研究 I. 三倍體雜種自然加倍在花生育種上的應用。廣西農業科學 1：5-8。
3. 黃惠娟、曹文隆、楊金興、蔡志濃。1996。引進落花生種原之特性評估。中華農業研究 45:15-25。
4. 張同吳。1995。台灣落花生品種 (系) 之遺傳研究。中興大學農藝學研究所碩士論文。
5. Bromfield, K.R. and W.K. Bailey. 1972. Inheritance of resistance to *Puccinia arachidis* in peanut. Phytopathology 62:748.
6. Burow, M.D., C. E. Simpson, A.H. Paterson, and L. J. Starr. 1996. Identification of peanut (*Arachis hypogaea* L.) RAPD markers diagnostic of root-knot nematode (*Melioidogyne arenaria* (Neal) Chitwood) resistance. Mol. Breed. 2:369-379.
7. Coffelt, T.A. 1974. Inheritance of growth habit in an intraspecific-cross population of peanut. J. Hered. 65:160-162.
8. Das, S., S. Mandal, and Raj, S.K. 1995. Disease reaction of groundnut germplasms to *Puccinia arachidis* speg and stability of resistance. Trop. Agric. 72:252-253.
9. Doyle, J.D., J.L. Doyle, and L.H. Bailey. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12:13-15.

10. Garcia, G.M., H.T. Stalker, and G. Kochert. 1995. Introgression analysis of an interspecific hybrid population in peanuts (*Arachis hypogaea* L.) using RFLP and markers. Genome 38:166-176.

11. Halward, T.M., H.T. Stalker, and G. Kochert. 1993. Development of an RFLP linkage map in diploid peanut species. Theor. Appl. Genet. 87:379-384.

12. Hammons, R. O. 1973. Genetics of *Arachis hypogaea.* pp.135-174. In Peanut: culture and uses. Am. Peanut Res. Edu. Asso. OK. USA.

13. Reddy, L.J., A.G.S. Subrahmanyam, D. McDonald, and R.W. Gibbons. 1992. Registration of icgv 87157, an elite peanut germplasm with multiple resistance to diseases. Crop Sci. 32:837.

14. Simpson, C.E. and K.S. Davis. 1983. Meiotic behavior of a male-female triploid *Arachis* L. Crop Sci. 23:581-584.

15. Simposon, C. E, S. C. Nelson, J. L. Starr, K. E. Woodard and O. D. Smith. 1993. Registration of TXAG-6 and TXAG-7 peanut germplasm lines. Crop Sci. 33:1418.

16. Singh, A.K. and J.P. Moss. 1984. Utilization of wild relatives in the genetic improvement of *Arachis hypogaea* L. Fertility in triploids: cytological basis and breeding implication. Peanut Sci. 11:17-21.

17. Subrahmanyam , P., L.J. Reddy, R.W.Gibbons, and D. McDonald. 1985. Peanut rust : a major threat to peanut production in the semiarid tropics. Plant Dis. 69:813-819.

18. Subrahmanyam , P., J.P. Moss, and V.R. Rao. 1983. Resistance to peanut rust in wild *Arachis species.* Plant Dis. 67(2):209-212

19. Tang, Z. W. 1996. Achieving high groundnut yields: Proceedings of an international workshop. ICRISAT.

Identification and Characteristic Analysis of Interspecific Hybrids of Peanut[1]

Huey-Jiusn Husng[2], Wen-Long Tsaur[2],
Shun-Fu Lin[3], Jaw-Shu Hsieh and Jhi-Nong Tsai[4]

Summary

To improve disease resistance to rust and leaf spots, eight introduced wild species of peanut germplasm were crossed with cultivars grown in Taiwan. The F_1 plants of cross combinations were confirmed to be triploid by the examination of chromosome number and RAPD analysis. By colchicine treatment or spontaneous diploidization, the interspecific F_1 hybrids could produce ameiotic spores namely, 2N pollen, thus various numbers of chromosome were observed in the F_2 progenies ($2n = 40 - 60$). Some of the F_2 plants were fertile, and the progenies were propagated to F_5 generation. The results of rust pathogen inoculation for interspecific F_5 hybrid progenies were summarized as follows : The resistance for rust of wild type peanuts were different from the slow resistant mechanism of cultivars. The wild type peanuts have the different genes for rust resistance, such as the resistance of *A. chacoense* was immunity, and the resistance of *A. villosa* and *A. spegazzinii* were partial dominance.

Key words : Cultivated peanut (*Arachis hypogaea*), Wild peanut, Interspecific hybrid.

---

1. Contribution No. 1969 from Taiwan Agricultural Research Institute
2. Respectively, Assistant, Assistant Agronomist , Department of Agronomy, TARI.,Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. The Former Assistant Agronomist. Now Assistant Professor, Department of Agronomy, NTU. Professor, Deartment of Agronomy, NTU.
4. Assistant, Department of Plant Pathology, TARI.